

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
Campus Baixada Santista

RODRIGO FREITAS DE OLIVEIRA

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO
AERÓBIO E RESISTIDO NAS
CONCENTRAÇÕES CENTRAIS E
PERIFÉRICAS DE BDNF EM RATOS**

Santos

2014

RODRIGO FREITAS DE OLIVEIRA

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO E RESISTIDO NAS CONCENTRAÇÕES CENTRAIS E PERIFÉRICAS DE BDNF EM RATOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado á
Universidade Federal de São Paulo como parte dos
requisitos curriculares para obtenção do título de
bacharel em Educação Física – Modalidade Saúde.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Hanna Karen Moreira Antunes

Santos

2014

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha Mãe, meu Pai e minha tia Bete por serem as pessoas mais importantes durante toda a na minha vida. A minha família por sempre estar presente, me apoiar em todas as minhas decisões e aventuras. Aos meus amigos que fizeram ou ainda fazem parte da minha vida.

Agradeço especialmente ao CNPq e ao meu grupo de pesquisa: Sara, Helton, Marcos, Bob, Jorginho, Marcão, Mari, Hanna e todos por toda ajuda durante o experimento, pelos bons momentos ao longo desse tempo e por toda a paciência comigo.

Muito Obrigado.

RESUMO

O exercício físico regular vem a algum tempo sendo identificado como uma importante estratégia não farmacológica que atua de forma benéfica nas questões físicas e cognitivas, sendo esses benefícios apenas observados com a cronicidade da prática do exercício. O treinamento físico produz adaptações funcionais, fisiológicas e morfológicas importantes no organismo que culminam na melhora da saúde no sentido da prevenção/tratamento de doenças. Assim, o Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) tem um efeito protetor para o organismo, participando de processos metabólicos que auxiliam o funcionamento do corpo. Diante do exposto, objetivo do trabalho foi investigar o efeito do treinamento físico aeróbio e do treinamento físico resistido nas concentrações centrais e periféricas de BDNF em ratos. Para isso, foram utilizados ratos machos Wistar, divididos em grupos com aproximadamente dez animais cada e divididos em grupo controle (CNTL), grupo submetido ao treinamento aeróbio (GTA) e grupo submetido ao treinamento resistido (GTR). Após oito semanas de protocolo de treinamento, os animais foram eutanasiados para a retirada do sangue, músculo e cérebro para posteriores análises de Corticosterona, Testosterona, Insulina, Proteína C Reativa (PCR) e BDNF. Não foram encontradas diferenças significativas nas análises de Corticosterona ($F_{(2,24)}=0,06620$, $p=,93612$), Insulina ($F_{(2,23)}=1,6970$, $p=,20538$), Proteína C Reativa ($F_{(2,18)}=,63789$, $p=,53994$) e nas concentrações de BDNF no músculo ($F_{(2,24)}=,83853$, $p=,44462$), quando estas foram comparadas entre os grupos. Na análise de Testosterona foi possível observar o aumento do GTA quando comparado aos demais grupos ($F_{(2,22)}=11,382$, $p=,00040$). O BDNF no hipocampo apresentou diferença significativa do grupo GTA quando comparado ao GTR ($F_{(2, 21)}=3,7264$, $p=,04121$) enquanto que no sangue os dois tipos de treinamento foram capazes de aumentar o BDNF ($F_{(2, 24)}=37,470$, $p=,00000$). Em relação a corticosterona, insulina e PCR, não foram observadas diferenças significativas. Nessa perspectiva, podemos concluir que os dois tipos de treinamento foram eficazes para melhorar a composição corporal, força muscular, capacidade aeróbia e aumentar os níveis de BDNF no sangue.

Palavras chave: Exercício Aeróbio, Exercício Resistido, BDNF.

ABSTRACT

Regular exercise has for some time been identified as an important non-pharmacological strategy that acts beneficially on the physical and cognitive issues, and these benefits only observed with the chronicity of the practice of exercise. Exercise training produces functional, physiological and morphological adaptations important in the body which results in the improved health towards prevention / treatment of diseases. Thus, the Neurotrophic Factor Brain Derived (BDNF) has a protective effect for the body, participating in metabolic processes that help the body function. Given the above, the objective was to investigate the effect of aerobic exercise and resistance exercise training in the central and peripheral levels of BDNF in rats. For this, we used male Wistar rats were divided into groups with about ten animals each and divided into control (CNTL), the group submitted to aerobic training (GTA) and the group submitted to resistance training (GTR). After eight weeks of training protocol, the animals were euthanized to remove the blood, muscle and brain for further analysis of corticosterone, testosterone, insulin, C-reactive protein (CRP) and BDNF. No significant differences were found in the analysis of corticosterone ($F(2,24) = 06,620$, $p = 93612$), insulin ($F(2,23) = 1.6970$, $p = 20538$), C-reactive protein ($F(2,18) = 63789$, $p = 53994$) and the BDNF concentration in the muscle ($F(2,24) = 83,853$, $p = 44462$), when they were compared between the groups. In Testosterone analysis we observed an increase in the GTA compared to other groups ($F(2,22) = 11.382$, $p = 00040$). BDNF in hippocampus showed a significant difference GTA group compared to GTR ($F(2, 21) = 3.7264$, $p = 04121$), whereas the blood both types of training were able to increase BDNF ($F(2, 24) = 37.470$, $p = 00000$). In this perspective, we can conclude that the two types of training were effective in improving body composition, muscular strength, aerobic capacity and increase BDNF levels in the blood.

Keywords: Aerobic Exercise, Resistance Exercise, BDNF.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Foto do aparato de treinamento resistido.....	20
Figura 2 - Foto da esteira rolante.....	22
Figura 3 - Delta Massa Corporal	29
Figura 4 - Carga Máxima.....	30
Figura 5 - AST do Músculo Plantar.	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Massa Corporal dos Animais Durante o Protocolo de Oito Semanas de Treino.	28
Tabela 2 - Resultado do Teste para Determinação da Velocidade Máxima.....	30
Tabela 3 - Peso dos Tecidos	32
Tabela 4 - Análises Bioquímicas	33
Tabela 5 - Evolução do Teste de Carga Máxima Durante 8 Semanas	45
Tabela 6 - Delta da Variação do Peso Corporal.	45
Tabela 7 - AST do Músculo Plantar.	45

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. MÉTODO	16
2.1 Animais experimentais e condições ambientais	16
2.2 Cuidados éticos para com os procedimentos experimentais	16
2.3 Grupos Experimentais	17
2.4 Procedimentos Experimentais	17
2.4.1 Treinamento Resistido	17
2.4.1.1 Caracterização do Aparato de Treinamento	17
2.4.1.2 Familiarização do Animal	18
2.4.1.3 Teste de Carga Máxima.....	18
2.4.1.4 Descrição do Treinamento de Força.....	19
2.4.2 Treinamento Aeróbio.....	22
2.4.3 Eutanásia.....	23
2.4.4 Composição corporal.....	23
2.4.5 Dosagens Sanguíneas	24
2.4.6 Histomorfometria	25
2.4.7 Análise Estatística	25
3. RESULTADOS	27
3.1 Massa Corporal.....	27
3.2 Treinamento Aeróbio.....	29
3.3 Treinamento de Força.....	30
3.4 Peso dos Tecidos	31
3.5 Análises Bioquímicas	32

4. DISCUSSÃO	34
5. CONCLUSÃO.....	37
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
APÊNDICE 1	45
ANEXO 1	46

1. INTRODUÇÃO

O exercício físico regular tem sido identificado na literatura científica como uma importante estratégia não farmacológica capaz de atuar de forma benéfica nas esferas física e cognitiva (WARBURTON *et al.*, 2006), sendo que parte deste benefício está associado a cronicidade da prática.

Em 2011, o Colégio Americano de Medicina Esportiva (ACSM), publicou um periódico para prescrição de exercícios físicos, onde foram considerados os parâmetros para manutenção e desenvolvimento dos aspectos cardiorrespiratórios, músculo esquelético e neuro-motores de adultos saudáveis. Neste documento, a recomendação de exercícios cardiorrespiratórios de moderada intensidade envolve uma frequência de 5x/semana, por um período igual ou superior a 30 minutos, e a realização de atividades vigorosas por 20 minutos ou mais, ≥ 3 x/semana, ou uma combinação de atividades moderadas e vigorosas. Esta recomendação aplica-se a indivíduos aparentemente saudáveis ou com determinadas doenças crônicas (desde que avaliados por um profissional da área da saúde). Complementando este racional, o documento recomenda a realização de 2-3x/semana de exercícios resistidos para grandes grupos musculares, além de exercícios de equilíbrio, agilidade e coordenação (ACSM, 2011), para melhora e manutenção da saúde.

Neste documento fica explícito a importância da realização de exercícios físicos, tanto aeróbio, quanto resistido para saúde, e esta importância pode ser percebida de acordo com os benefícios que envolvem a prática sistemática deste tipo de atividade. O exercício aeróbio, por exemplo, determina uma série de adaptações morfofuncionais e fisiológicas no organismo do praticante, entre elas, destacamos a melhora da cognição e da saúde do cérebro (CHAPMAN *et al.*, 2013), o aumento da capacidade de captar, transportar e utilizar o oxigênio (V_{O2}) pelos tecidos (MILLER *et al.*, 2013), aumento no tamanho das mitocôndrias e o aumento na quantidade das enzimas oxidativas, aumento no número das fibras musculares do tipo I e IIa (HANDSCHIN e SPIEGELMAN, 2008), diminuição da massa corporal, redução da gordura abdominal, redução do percentual de gordura corporal e gordura corporal total (LEE *et al.*, 2013). Além disso, melhora o perfil lipídico em mulheres idosas (FAHLMAN *et al.*, 2002) e promove adaptações cardiovasculares como a hipertrofia excêntrica (MAGALHÃES *et al.*, 2008), diminuição da pressão arterial

(CARDOSO JÚNIOR *et al.*, 2010), aumento na velocidade de recuperação da frequência cardíaca basal (SNOEK *et al.*, 2013), aumento do volume sanguíneo total e plasmático, aumento na quantidade de hemácias, no retorno venoso, na contratilidade miocárdica e no débito cardíaco máximo (McARDLE, 2003).

Já o exercício físico resistido, por sua íntima atuação na musculatura esquelética, está envolvido com as seguintes adaptações e benefícios: redução da perda de massa muscular durante o envelhecimento (FAHLMAN *et al.*, 2002), hipertrofia muscular, da força (CHARETTE *et al.*, 1991; McCARTNEY *et al.*, 1995; STARON *et al.*, 1994) e da resistência muscular (SELIG *et al.*, 2004), manutenção da densidade mineral óssea, melhora do equilíbrio (NELSON *et al.*, 1994), aumento do número de enzimas glicolíticas e o glicogênio intramuscular, hipertrofia das fibras musculares do tipo IIb (HANDSCHIN e SPIEGELMAN, 2008) e também diminuição da pressão arterial sistólica e diastólica na população em geral (CARDOSO JÚNIOR *et al.*, 2010). É importante mencionar que estas modificações comentadas são responsáveis pela manutenção da saúde do praticante.

A literatura científica tem chamado a atenção a uma série de substâncias com papéis importantes nas diversas interações entre os tecidos, como por exemplo, a translocação do GLUT-4 para a membrana celular (SUWA *et al.*, 2010). Essas substâncias participam de inúmeros processos fisiológicos, tanto central, quanto periféricamente, sendo assim, essas substâncias podem ser classificadas como neurotróficas e/ou metabotróficas, que curiosamente podem ter suas concentrações aumentadas quando o exercício físico é praticado (VAYNMAN e GOMEZ-PINILLA, 2005; ROJAS VEGA *et al.*, 2006; ROJAS VEGA *et al.*, 2008; GOLD *et al.*, 2003; FERRIS *et al.*, 2007; OGBORN e GARDINER, 2009; DING *et al.*, 2006). Entre essas substâncias, as neurotrofinas têm chamado atenção.

As neurotrofinas são conhecidas por regular a manutenção, plasticidade, crescimento e morte neuronal (CLOW e JASMIN, 2010) e por sua íntima relação com as doenças neurodegenerativas e crônicas (TONRA *et al.*, 1999; NAKAGAWA *et al.*, 2000; KRABBE *et al.*, 2007; SAKUMA e YAMAGUCHI, 2011; GOLD *et al.*, 2003; BUS *et al.*, 2010; LLORENS-MARTÍN *et al.*, 2008). Elas atuam em todos os tecidos do organismo e, frente ao exercício físico, essas substâncias podem ter sua concentração alterada no Sistema Nervoso Central ou nos órgãos periféricos (ADLARD *et al.*, 2004; GOMEZ-PINILLA *et al.*, 2002; FERRIS *et al.*, 2007). Em mamíferos, a família de neurotrofinas é formada pelo

Fator de Crescimento Neural (NGF), Neurotrofina-3, Neurotrofina-4/5, VEGF e o Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) (MOUSAVI e JASMIN, 2006). Existem duas classes de receptores para as neurotrofinas, o receptor *pan-neurotrophin receptor p75* (p75NTR), que faz parte da superfamília de receptores de necrose tumoral (ZOLADZ e PILC, 2010; REICHARDT 2006) e o receptor tirosina quinase (Trk-r) (KERMANI e HEMPSTEAD, 2007). Os receptores Trk-r apresentam grande afinidade para as neurotrofinas e apresentam as seguintes preferências: TrkA para NGF, TrkB para o BDNF e NT-4 e o TrkC para NT-3 (ZHAN *et al.*, 2003). Através desses receptores e suas respectivas sinalizações intracelulares que as neurotrofinas exercem sua função.

O BDNF atua no sistema nervoso central promovendo o crescimento e manutenção de diversos neurônios localizados em diferentes estruturas do encéfalo, fortalecendo as sinapses Glutamatérgicas e por outro lado, enfraquecendo as sinapses Gabaérgicas (BINDER e SCHARFMAN, 2004). Ogborn e Gardiner (2009) sugerem que o BDNF está envolvido no processo de adaptação neuromuscular desencadeado pelo aumento da atividade muscular. Esta neurotrofina também promove a neurogênese através da estimulação via de sinalização do AMP kinase e da PI3-kinase (BARNABÉ-HEIDER e MILLER, 2003). No entanto, a mesma exerce um papel importante em diversos processos metabólicos e em diferentes tecidos não neuronais, como por exemplo, o músculo esquelético.

Ao mesmo tempo, alguns autores demonstraram que essa neurotrofina pode reduzir a ingestão de alimentos e também diminuir a concentração de glicose no sangue (TONRA *et al.*, 1999 e NAKAGAWA *et al.*, 2000) e, dando suporte a esses dados, Suwa *et al.*, (2010) demonstraram que o tratamento com BDNF exógeno aumentou a expressão proteica de GLUT-4 em ratos, reforçando seu papel importante no controle glicêmico (SUWA *et al.*, 2010).

No músculo uma das principais funções do BDNF é participar no processo de regeneração muscular, inibindo a diferenciação miogênica para que as células continuem seu ciclo celular normal (MOUSAVI e JASMIN, 2006). Portanto para que ocorra a diferenciação miogênica e consequente regeneração das fibras musculares, ocorre a supressão da expressão gênica do BDNF de seu receptor p75NTR através da ação do microRNA miR-206 (MIURA *et al.*, 2012). Após a diferenciação miogênica, o BDNF e

p75NTR têm uma redução de cinco vezes da sua concentração no músculo esquelético e células satélites. Esses resultados sugerem que a presença de BDNF mantém o ciclo celular, e sua inibição promove a interrupção do ciclo celular e consequente iniciação da diferenciação miogênica (MOUSAVI e JASMIN, 2006).

Ratos modificados geneticamente que apresentam depleção seletiva de BDNF no músculo esquelético demonstram expressão tardia de vários marcadores moleculares de regeneração após lesão muscular, como por exemplo, a redução do marcador de células satélites Pax7 (CLOW e JASMIN, 2010).

O p75NTR é um marcador de células precursoras de músculo esquelético em alto potencial de diferenciação, o que regula positivamente a maturação de células musculares e miogênese. O bloqueio desse receptor dificulta a regeneração muscular. Os níveis de TrkB nos mioblastos são reduzidos, fortalecendo a hipótese de que o BDNF atua no músculo através do receptor p75NTR (COLOMBO *et al.*, 2013).

As miopatias inflamatórias idiopáticas são consideradas doenças autoimunes, o que aumenta a infiltração de células do sistema imune no músculo. Essas células não são distribuídas ao longo do tecido proporcionalmente, algumas estão ativadas e localizadas nas fibras musculares secretando fatores citolíticos, como a perforina, enquanto que, outras células do sistema imune estão localizadas perto de fibras em regeneração que expressam p75NTR. As células do sistema imune não apresentam esse perfil citolítico, pois, elas estão participando dos processos de regeneração devido à presença de BDNF derivado das plaquetas e do próprio músculo, sugerindo o efeito autócrino do BDNF nessas células (COLOMBO *et al.*, 2013).

Sua síntese ocorre em todo o Sistema Nervoso Central (BUS *et al.*, 2010), porém é no hipocampo onde as maiores concentrações são encontradas (BINDER e SCHARFMAN, 2004). No entanto, Matthews *et al* (2009); Mousavi e Jasmin (2006); Garcia *et al* (2010) e Ferris *et al* (2007) demonstram que o BDNF é produzido no músculo esquelético e em células satélites em condição normal e após a realização de uma sessão de exercício físico. Outros trabalhos também demonstram que além do Sistema Nervoso Central e músculo, o BDNF também pode ser sintetizado por outros tecidos periféricos, como as células endoteliais vasculares, células T e B, em sua forma ativa e monócitos (NAKAHASHI *et al.*, 2000; KERSCHENSTEINER *et al.*, 1999).

A nível celular, sua síntese ocorre no Complexo de Golgi através da clivagem proteolítica pelos membros da família Kexin-subtilisina, como a Furina. Isto ocorre por meio de uma proteína precursora, que é constituída de uma sequência de sinal, um pró-domínio e sequência de sinal da neurotrofina madura, chamada pró-BDNF. Essa clivagem proteolítica também pode acontecer nos grânulos secretores imaturos (CHAO e BOTHWELL, 2002; GREENBERG *et al.*, 2009; REICHARDT 2006).

O pro-BDNF exibe uma grande afinidade pelo receptor p75, que, ao ser ativado pelo ligante participa da via intracelular de apoptose. A clivagem do pro-BDNF resulta em duas outras proteínas, o BDNF maduro (BDNFm), que apresenta uma baixa afinidade ao receptor p75 e uma grande afinidade ao receptor TrkB, e uma outra forma pouco conhecida chamada de BDNF *truncated*, na qual sua função ainda é desconhecida (CHAO e BOTHWELL, 2002; ZOLADZ e PILC, 2010).

Quando essa neurotrofina é produzida, ela pode ser transportada pela corrente sanguínea combinada com as plaquetas (Plasma) e na sua forma livre (Soro). É possível observar que, o soro tem uma concentração de aproximadamente 200 vezes maior que o plasma, já que, o BDNF no plasma é transportado pelas plaquetas. (FUJIMURA *et al.*, 2002; NAKAHASHI *et al.*, 2000). A liberação de BDNF varia nas células/tecidos alvo, porém sua secreção pelas plaquetas acontece mediante a um estímulo agonista, dependendo da especificidade de cada tecido (KNAEPEN *et al.*, 2010; NAKAHASHI *et al.*, 2000).

Sua concentração no plasma e soro está relacionada com diversas doenças neurodegenerativas, crônicas e o estilo de vida (FUJINAMI *et al.*, 2008; BUS *et al.*, 2010; CURRIE *et al.*, 2009; TOYOOKA *et al.*, 2002; AYDEMIR *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2007; GONUL *et al.*, 2005; MONTELEONE *et al.*, 2004; LASKE *et al.*, 2006). Baixas concentrações de BDNF circulante estão relacionadas com o Alzheimer (LASKE *et al.*, 2006), depressão e comportamento suicida (AYDEMIR *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2007; GONUL *et al.*, 2005), esquizofrenia (TOYOOKA *et al.*, 2002), diabetes mellitus tipo II (FUJINAMI *et al.*, 2008; KRABBE *et al.*, 2007), anorexia nervosa (MONTELEONE *et al.*, 2004), metabolismo de glicose (FUJINAMI *et al.*, 2008), alta ingestão de álcool (BUS *et al.*, 2010) e curiosamente em indivíduos que praticam exercício físico regularmente (CURRIE *et al.*, 2009). Por outro lado, a alta concentração de BDNF está relacionada com indivíduos fumantes (BUS *et al.*, 2010), pessoas diagnosticadas com Asma alérgica

(LOMMATZSCH *et al.*, 2005) e a execução de um protocolo de exercício até a exaustão (FERRIS *et al.*, 2007).

É necessário que o BDNF esteja em uma concentração adequada em nosso organismo para prevenir o desenvolvimento de doenças e complicações, diante disso, o aumento dessa neurotrofina em indivíduos que apresentam baixas concentrações é importante para retomar alguns processos fisiológicos importantes para o funcionamento do corpo (BUS *et al.*, 2010). No entanto, o aumento de BDNF pode sinalizar algum processo prejudicial ao nosso organismo, como por exemplo, em uma lesão de nervo muscular onde o aumento de BDNF indica o local da lesão, iniciando os processos de regeneração naquele local (MORISAWA *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2012).

O exercício físico é capaz de alterar a concentração da neurotrofina no organismo, exercício de *endurance* é capaz de alterar a concentração de BDNF em modelos animais (VAYNMAN e GOMEZ-PINILLA, 2005) e em humanos aparentemente saudáveis ou portadores de alguma patologia (ROJAS VEGA *et al.*, 2006; ROJAS VEGA *et al.*, 2008; GOLD *et al.*, 2003). O exercício físico em humanos até a exaustão, segundo Ferris *et al.* (2007) aumentou a concentração de BDNF no soro sanguíneo em humanos em 30% logo após o término da sessão, enquanto Ogborn e Gardiner (2009) mostraram que o exercício físico em esteira, realizado em cinco dias consecutivos, em velocidade de 20m/min e inclinação de 5% com ratos, aumentou significativamente os níveis de BDNF no músculo sóleo.

O exercício aeróbio agudo é capaz de aumentar a concentração de BDNF no sangue em pessoas saudáveis, com doenças ou deficiências (KNAEPEN *et al.*, 2010). Por outro lado os resultados são bastante controversos em relação ao exercício agudo de força. Yarrow *et al.* (2010) encontrou um aumento de 32% nas concentrações de BDNF no sangue, enquanto que Goekint *et al.* (2010) não encontrou diferença significativa após uma sessão de exercício de força nas concentrações de BDNF no sangue de humanos.

O aumento na concentração de BDNF é transitório, durando por volta de 10 a 60 minutos. Após esse período, os valores chegam próximos ao basal e entre 2 - 3 horas após o exercício os valores chegam abaixo dos níveis basais (KNAEPEN *et al.*, 2010).

Observa-se que, o aumento na concentração de BDNF tem relação com a intensidade do exercício uma vez que, quanto mais intenso, o aumento é maior, enquanto

que nos exercícios de menor intensidade o aumento de BDNF é em menor magnitude. Entretanto, em pessoas com Esclerose Múltipla, o aumento de BDNF executando uma sessão de exercício de baixa intensidade, aumenta os níveis de BDNF significativamente (KNAEPEN *et al.*, 2010).

Com base no que foi estudado, indicando principalmente o treinamento físico aeróbio capaz de alterar os níveis do BDNF em tecidos neurais e não neurais, e relacionando-o com diversas doenças neurodegenerativas e crônicas, acredita-se que, os benefícios para a saúde provenientes do treinamento físico é em partes devido alteração na concentração de BDNF no organismo.

Como observado em alguns estudos (KNAEPEN *et al.*, 2010; FERRIS *et al.*, 2007; OGBORN e GARDINER, 2009), o treinamento aeróbio aumenta as concentrações de BDNF no organismo promovendo os efeitos benéficos do treinamento e da própria neurotrofina. Contudo, apesar de Rojas Veja *et al* (2008) demonstrar que o exercício resistido não aumentou o BDNF no soro, Yarrow *et al* (2010) encontrou um aumento significativo nos níveis de BDNF, após uma sessão de exercício de força. Matthews *et al* (2009) demonstraram que houve o aumento nos níveis de BDNF após contração muscular, sugerindo que o treinamento resistido também poderá aumentar os níveis de BDNF.

Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do treinamento físico aeróbio e do treinamento físico resistido durante oito semanas nas concentrações centrais e periféricas de BDNF em ratos.

2. MÉTODO

Trata-se de uma pesquisa experimental, com uma abordagem quantitativa dos resultados (THOMAS e NELSON, 2002). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de São Paulo, sob número #0764/10.

2.1 Animais experimentais e condições ambientais

Durante o estudo foram utilizados 30 ratos machos Wistar EPM-1, com massa corporal variando de 300 a 350g e com três meses de idade, mantidos no biotério do Departamento de Psicobiologia e provenientes da colônia do Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais (CEDEME) da Escola Paulista de Medicina/UNIFESP.

Os animais foram mantidos durante o experimento em uma sala, sob as seguintes condições: ciclo claro/escuro 12:12h, cuja iluminação iniciava-se as 7h, com temperatura controlada ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), e com água e ração (Nuvilab®) *ad libitum*.

Durante a fase de desenvolvimento, os animais foram distribuídos em grupos de quatro a seis animais, em caixas de polipropileno brancas (31x38x16,5cm) e tampas de aço inox com recuos para o fornecimento de água e ração. Para a forração das caixas moradias foi utilizado sabugo de milho triturado, trocado três vezes por semana pelos técnicos do laboratório, no período da manhã.

2.2 Cuidados éticos para com os procedimentos experimentais

Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos por pessoas treinadas, estando de acordo com o Manual sobre Cuidados e Uso de Animais de Laboratório (*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals - National Research Council, NIH Publication N° 85-23, revised 1996*), e com protocolos de uso e eutanásia de animais “princípios de cuidados com animais de laboratório” (*Committee on Guidelines for the Use of Animals in Neuroscience and Behavioral Research, 2003; ANDERSEN et al., 2004; ANDERSEN e TUFIK, 2010*).

2.3 Grupos Experimentais

Os animais foram distribuídos de forma aleatória em três grupos experimentais integrados com aproximadamente 10 animais cada, conforme descrito a seguir: grupo controle (CNTL); composto por animais controles que foram mantidos em suas caixas moradias e apenas fizeram os testes de carga máxima; grupo treinamento resistido (GTR); composto por animais submetidos a oito semanas de treinamento resistido e, grupo treinamento aeróbio (GTA); composto por animais submetidos a oito semanas de treinamento aeróbio. As sessões de treinamento aconteceram durante o período da tarde.

2.4 Procedimentos Experimentais

2.4.1 Treinamento Resistido

O treinamento resistido foi realizado em uma escada adaptada para roedores durante oito semanas.

2.4.1.1 Caracterização do Aparato de Treinamento

O aparato utilizado para a realização do exercício físico resistido (força) foi adaptado de estudos prévios (YARASHESKI, LEMON e GILLOTEAUX, 1990; DUNCAN, WILLIAMS e LYNCH, 1998) que consiste em uma escada com dimensões de 110 cm de altura por 18 cm de largura, inclinada a 80°, com espaçamento de 2 cm entre os degraus, sendo o primeiro a 27,5 cm do chão para evitar o contato com o solo. No topo da escada existe uma câmara de 20x20x20 cm que serve de abrigo durante o repouso entre as séries de escalada (HORNBERGER e FARRAR, 2004).

Para a fixação da sobrecarga, foram utilizados os seguintes itens: 13,5 cm de cabo de aço inoxidável unidos entre si em formato de círculo; Um Coastlock Snap Swivel para fixar os cilindros com pesos utilizados nas séries do exercício. O Coastlock Snap Swivel foi fixado na porção proximal da cauda do animal por uma fita de alta fusão

(Scotch[®] Rubber Splicing Tape 23 - Scotch[®] 3M) para posterior incremento dos cilindros conforme a progressão do exercício.

2.4.1.2 Familiarização do Animal

A familiarização do animal com o aparato foi constituída de nove tentativas por dia, conduzidos por um período de três dias consecutivos. Antes da primeira tentativa, o animal permaneceu durante 60 segundos na câmara (topo da escada) com o intuito de perceber que aquele ambiente não lhe oferecia perigo. Nas três primeiras tentativas, o animal foi colocado na parte proximal da escada a uma distância de aproximadamente 35 cm da entrada da câmara, sendo esta considerada uma tentativa fácil. Nas três tentativas posteriores, o animal foi posicionado na metade da escada a uma distância de aproximadamente 55 cm da entrada da câmara, já sendo considerada uma tentativa de dificuldade média. Nas três últimas tentativas, o animal foi colocado na parte distal (início) da escada a 110 cm de distância da entrada da câmara, sendo esta considerada uma tentativa de dificuldade alta. Entre cada tentativa, os animais descansaram 60 segundos na câmara de repouso. Quando necessário, foram aplicados toques suaves na cauda do animal para estimulá-lo a subir (SHIGUEMOTO *et al.*, 2012).

2.4.1.3 Teste de Carga Máxima

Três dias após a familiarização foi realizado um teste para determinação da carga máxima a ser carregada por cada animal. A primeira escalada foi realizada com uma sobrecarga referente a 50% da massa corporal do animal e, posteriormente, 75%, 90% e 100%, com 60 segundos de intervalo entre elas. Após, incrementou-se 30g e o tempo passou a ser de 120 segundos. Isso se deu até ser possível atingir uma sobrecarga na qual o animal não conseguisse percorrer toda a escada.

A falha foi determinada quando o animal foi incapaz de escalar a escada após três estímulos sucessivos na cauda. Já a carga máxima, foi estabelecida pela maior carga carregada pelo animal por todo o comprimento da escada sem que houvesse falha. Durante

todo o período de treinamento, às segundas-feiras, os animais foram submetidos a uma nova avaliação da carga máxima, que foi considerada como uma sessão de treinamento resistido (SHIGUEMOTO *et al.*, 2012).

2.4.1.4 Descrição do Treinamento de Força

O treinamento foi constituído de quatro a oito séries de escalada na escada, com cargas progressivamente maiores e intervalos de 60 segundos entre as séries, realizados cinco vezes por semana, de segunda à sexta-feira. O comprimento do aparato de treinamento fazia com que os animais executassem de 8 a 12 movimentos (repetições) para se deslocarem do início ao topo da escada. Na primeira série, a sobrecarga imposta ao animal foi equivalente a 50% da carga máxima. Em seguida, a sobrecarga foi incrementada progressivamente, sendo para a segunda 75%, terceira 90% e quarta série com 100% da carga máxima estabelecida. Para as subidas subsequentes foram adicionados 30g em cada tentativa até a falha (SHIGUEMOTO *et al.*, 2012).

Como a característica do protocolo adotado é de alta intensidade, também associado ao grande volume de treinamento, esse protocolo leva a um trauma muscular repetitivo. A partir da sexta semana de treinamento, às quartas-feiras, houve um descanso profilático, considerando a inexistência de uma linha tênue entre a melhora e a piora do desempenho. Tal decisão foi tomada como forma de evitar o estado chamado de *overtraining* ou até mesmo a sua forma menos severa, conhecida como *overreaching*, que são reconhecidos por propiciar efeitos nocivos, devido à incoerência entre a relação intensidade/volume de treinamento, com concomitante recuperação insuficiente (HALSON e JEUKENDRUP, 2003).

Também é válido destacar que, ao longo das oito semanas de execução do protocolo de treinamento resistido, os animais realizaram de 4-8 séries, um grande intervalo que pode ser justificado pelo importante princípio de treinamento conhecido como interdependência volume/intensidade. Este princípio está intimamente associado a sobrecarga de trabalho que implica com a melhora da *performance* através do volume/intensidade. No entanto, o aumento do estímulo de uma dessas variáveis, culmina com a redução da outra, se aplicando ao nosso modelo. No início do treinamento os animais

carregaram cargas menores (menor intensidade), mas executam mais séries (maior volume), e com o decorrer das semanas, tal relação se inverte, assim, os mesmos foram capazes de carregar maiores cargas (maior intensidade), em uma menor quantidade de vezes.

Dessa forma, para melhor compreensão do programa de treinamento resistido, apresenta-se um detalhamento no Quadro 1, com a descrição do número de séries de escalada, número de repetições de movimento por série, intervalos de tempo entre as séries e a sobrecarga de treinamento.

Contudo, é plausível afirmar que esse método mostra-se compatível ao bem estar animal, pois não é necessário estresse adicional como restrição alimentar ou estímulo elétrico para a realização do protocolo.



Figura 1- Foto do aparato de treinamento resistido. (Peixinho-Pena *et al* 2012)

QUADRO 1 - DESCRIÇÃO DO PROTOCOLO DE TREINAMENTO RESISTIDO

Semana	Séries de escaladas	Repetições de Movimentos por série de escalada	Intervalo entre as séries (s)	Sobrecarga de treinamento (% Carga Máxima)
1^a	4-8	8-12	60	1=50%/1=75%/ 1=90%/1=100%/30g adicionais até a falha
2^a	4-8	8-12	60	1=50%/1=75%/ 1=90%/1=100%/30g adicionais até a falha
3^a	4-8	8-12	60	1=50%/1=75%/ 1=90%/1=100%/30g adicionais até a falha
4^a	4-8	8-12	60	1=50%/1=75%/ 1=90%/1=100%/30g adicionais até a falha
5^a	4-8	8-12	60	1=50%/1=75%/ 1=90%/1=100%/30g adicionais até a falha
6^a	4-8	8-12	60	1=50%/1=75%/ 1=90%/1=100%/30g adicionais até a falha
7^a	4-8	8-12	60	1=50%/1=75%/ 1=90%/1=100%/30g adicionais até a falha
8^a	4-8	8-12	60	1=50%/1=75%/ 1=90%/1=100%/30g adicionais até a falha

2.4.2 Treinamento Aeróbio

O treinamento aeróbio foi realizado em esteira rolante (AVS[®]), em que os animais puderam se familiarizar durante três dias consecutivos por 10 minutos a uma velocidade entre 5-10m/min. Posteriormente, foram submetidos a um teste de tolerância ao esforço físico utilizando o seguinte protocolo: velocidade inicial de 5 m/min, sendo intensificados a cada 3 minutos, com velocidade de 5 m/min, até chegar o instante em que o animal não conseguir manter o padrão de corrida (BROOKS e WHITE, 1978).

Em relação ao treinamento propriamente dito, sua duração foi de oito semanas, sendo que, na primeira, os animais treinaram em 30 % da velocidade máxima ($V_{m\acute{a}x}$) alcançada no teste de tolerância durante 30 minutos. Nas três semanas seguintes, o tempo de duração foi de 40, 50 e 60 minutos respectivamente, mantendo a intensidade em 30% da $V_{m\acute{a}x}$. A partir da quinta semana, o tempo de duração do treinamento foi mantido e houve aumento da intensidade de treino para 40, 45, 50, e 55% da $V_{m\acute{a}x}$, finalizando assim as oito semanas de treino. A determinação do $V_{m\acute{a}x}$ foi realizada ao término da quarta e da oitava semana de treino com intuito de ajustar a intensidade do treinamento (GAVA *et al.*, 1995). O protocolo de treinamento pode ser visto no Quadro 2.



Figura 2 – Foto da esteira rolante.

QUADRO 2 - DESCRIÇÃO DO PROTOCOLO DE TREINAMENTO AERÓBIO

Semana	Tempo de cada Sessão de Treino	Porcentagem da V _{máx.}
1 ^a	30 minutos	30
2 ^a	40 minutos	30
3 ^a	50 minutos	30
4 ^a	60 minutos	30
5 ^a	60 minutos	40
6 ^a	60 minutos	45
7 ^a	60 minutos	50
8 ^a	60 minutos	55

2.4.3 Eutanásia

A eutanásia dos animais foi realizada por decapitação (guilhotina). Esse método consiste em um procedimento de morte rápida, inconsciente, livre de dor, e aceito para roedores quando o propósito é a obtenção de tecidos e sangue livres de contaminação por agentes químicos (AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION, 2001). Além disso, é plausível destacar que 1 hora antes da realização de tal procedimento, foi vedada a oferta de ração aos animais.

2.4.4 Composição corporal

Os animais foram pesados ao longo das oito semanas de treinamento as segundas-feiras, antes da execução dos protocolos de treinamento.

Para analisar a composição corporal dos animais após o período de treinamento, durante a eutanásia foram retiradas, pesadas e armazenadas as glândulas adrenais, baço, fígado e as gorduras epididimal (EPI) e retroperitoneal (RTP). O peso dos tecidos foi

ajustado pelo comprimento da tíbia através da equação peso da estrutura/comprimento da tíbia*1000.

2.4.5 Dosagens Sanguíneas

Logo após a eutanásia, o sangue foi coletado em tubo de vidro Vacutainer® seco ou com anticoagulante específico, e centrifugado a 3500 rpm, durante 10 minutos, para retirada de soro numa temperatura de 20°C e o plasma numa temperatura de 15°C. Essas amostras foram armazenadas em freezer -80°C até que as dosagens fossem realizadas.

As análises sanguíneas realizadas neste estudo foram: Corticosterona, Testosterona Total, Insulina, Proteína C Reativa e BDNF. Abaixo listamos os métodos que foram utilizados para cada uma das dosagens:

Corticosterona – As concentrações de corticosterona foram mensuradas pelo método de radioimunoensaio (RIA), usando kit comercialmente disponível (MP Biomedicals, EUA), com coeficiente de variação igual a 7,1%.

Testosterona Total – A análise foi realizada através do equipamento Unicell™ Dxi 800 Access® fabricado pela empresa Beckman Coulter®. O método de análise trata-se de um imunoensaio quimioluminescente, com limite de detecção mínima de aproximadamente 10 ng/dL.

BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) - Foi realizado pelo método Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), usando kit comercial disponível (Millipore®). Para esta análise, foram mensuradas as concentrações de BDNF no sangue (Soro), no músculo esquelético (Plantar) e no Cérebro (hipocampo). As amostras de músculo Plantar e do Hipocampo foram homogeneizadas com o tampão de 100mM TRIS/HCl - pH 7, que consistia de: 2% de proteína albumina do soro bovino (BSA), 1M de NaCl, 4mM de EDTA.Na², 2% de Triton X-100 e Inibidores de Protease (Sigma). A titulação do tampão/amostra utilizada foi de 1:200 (1ml de tampão a cada 200g de tecido). Após homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 14.000 RCF durante 30 minutos. Para realização do ELISA, as amostras de hipocampo foram diluídas em Diluente Padrão, na titulação de 1:20 (1µl de amostra em 20µl de Diluente Padrão). Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com o manual do fabricante, com limite de detecção mínima de aproximadamente 7.82 pg/mL.

Insulina- Foi realizada pelo método ELISA, usando kit comercial (Millipore®). Para esta análise, foi mensurada a concentração de Insulina no sangue, a análise foi conduzida de acordo com o manual do fabricante. O limite de detecção mínima é de aproximadamente ($0.73\mu\text{U/mL}$).

Proteína C Reativa (PCR) – Foi realizada pelo método de Nefelometria e/ou Aglutinação. Para esta análise, foi mensurada a concentração de PCR no soro, a análise foi conduzida de acordo com o manual do fabricante e com o valor de referencia de 0,80 mg/dL.

2.4.6 Histomorfometria

Para comprovar os efeitos do treinamento resistido, foi analisado a histomorfometria do músculo plantar, visto que este é agonista primário do gesto motor de subida ao aparato de treinamento, a escada. Sendo assim, o músculo plantar da pata esquerda foi retirado, desumedecido em papel absorvente, pesado e dividido em dois fragmentos, sendo a parte distal, posicionado envolto por massa composta de leite em pó e Tissue-Tek® O.C.T. Compound, congelado em N₂ líquido e armazenado em freezer -80° C. Posteriormente, os tecidos foram submetidos à microtomia com cortes transversais seriados de 10 μm em criostato (LeicaMicrosystem - CM1850), à temperatura de -22°C, sendo confeccionadas lâminas histológicas, coradas com hematoxilina e eosina (HE). Imagens digitais dos cortes foram feitas em três a quatro campos dos músculos de cada animal dos grupos experimentais estudados. As análises da área de secção transversa (AST) das fibras musculares foram realizadas de forma cega, sendo contadas 300 fibras por músculo. Todos os procedimentos foram realizados com auxílio de um microscópio Olympus BX50 brightfield e uma câmera DP71 (Melville, NY) utilizando uma objetiva com aumento de 40x, com auxílio do software Axion Vision 4.6 software (Carl Zeiss MicroImaging GmbH).

2.4.7 Análise Estatística

Os dados foram analisados com auxílio do programa Statistica[®] (Stat Soft, Inc, versão 12.0). O teste de Shapiro Wilk foi utilizado para avaliação da normalidade dos dados. Posteriormente, foi realizado a ANOVA (Análise de Variância) *one-way*, para comparação entre os grupos ou *two-way*, para avaliação entre os grupos e tempo. Para verificar as diferenças, o *post hoc* de Duncan Test foi utilizado. Para todas as análises, foi considerado o $p \leq 0,05$, sendo os dados apresentados em média \pm desvio padrão.

3. RESULTADOS

3.1 Massa Corporal

Na tabela 1 podemos observar o comportamento do peso corporal dos animais durante as oito semanas de treinamento. Não foi observada diferença intergrupo, porém quando avaliado o tempo, foi encontrado diferenças significativas ($F_{(7,168)}=76,421$, $p<0,05$). No grupo CNTL visualizou-se um aumento significativo no peso corporal dos animais, nas semanas 3 ($p=0,0005$), 4 ($p=0,2$) e 7 ($p=0,005$), quando comparadas às respectivas semanas anteriores, no mesmo grupo. No grupo GTA é possível visualizar esse aumento na 2ª semana ($p=0,0002$) e na 7ª semana ($p=0,01$) em comparação com a semana anterior respectiva.

Tabela 1 – Massa Corporal dos Animais Durante o Protocolo de Oito Semanas de Treino.

	1ª Sem. (g)	2ª Sem.(g)	3ª Sem. (g)	4ª Sem. (g)	5ª Sem. (g)	6ª Sem. (g)	7ª Sem. (g)	8ª Sem. (g)
CNTL	357±29	360±32	378±34*	390±36*	397±34	399±39	412±37*	418±36
GTA	330±19	348±22*	355±23	361±25	367±24	368±24	382±23*	387±24
GTR	365±39	366±45	373±45	378±45	381±47	387±48	391±43	395±42

ANOVA para medidas repetidas com *post hoc* utilizando Duncan Test. Dados apresentados em média ± desvio-padrão, com resultados significativos para $p \leq 0,05$. N=9. * - Diferente da semana anterior, no mesmo grupo. *Legenda:* (g)- gramas; (sem.)- semanas; CNTL- Grupo Controle; GTA- Grupo Treinamento Aeróbio; GTR- Grupo Treinamento Resistido.

Através da equação: massa corporal da oitava semana de execução do treinamento subtraída da massa corporal da primeira semana foi possível determinar o delta da variação do peso corporal, exposto na figura 1. Podemos observar que o grupo GTR apresentou uma redução no ganho de peso quando comparado aos grupos CNTL ($p=0,001$) e GTA ($p=0,004$); ($F_{(2, 24)}=7,9114$, $p=,00230$).

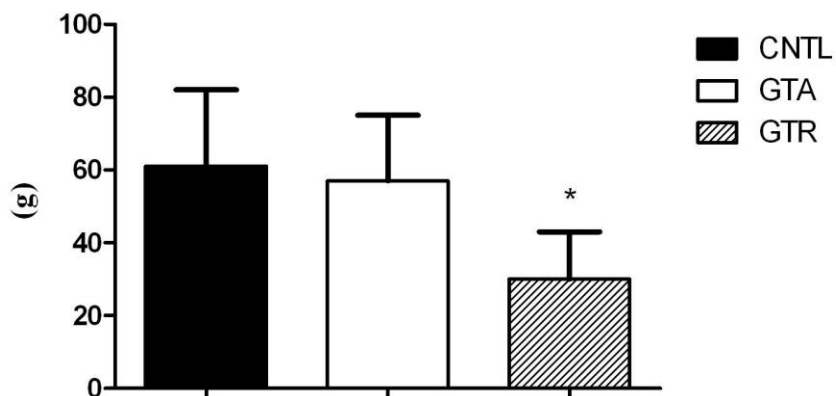


Figura 3 – Delta Massa Corporal. Gráfico demonstrativo do comportamento do delta da massa corporal durante o período de 8 semanas de protocolo de treinamento. ANOVA *one-way* com *post hoc* utilizando Duncan Test. Dados apresentados em média \pm desvio-padrão, com resultados significativos para $p \leq 0,05$. $N=9$. * - Diferente de todos os grupos. *Legenda:* CNTL- Grupo Controle; GTA- Grupo Treinamento Aeróbio; GTR- Grupo Treinamento Resistido.

3.2 Treinamento Aeróbio

Na tabela 2 podemos observar o desempenho do grupo submetido ao treinamento aeróbio nos três testes realizados para determinar a capacidade aeróbia máxima. Observamos efeito do tempo ($F_{(1,2)}=26,08$, $p=0,000009$), onde a velocidade alcançada em 4 semanas foi maior que o basal ($p=0,03$), e a velocidade alcançada em 8 semanas foi maior que o basal ($p=0,00008$) e maior que 4 semanas ($p=0,0003$). Resultados similares foram encontrados para a variável tempo máximo de permanência no teste, onde 4 semanas foi maior que o basal ($p=0,04$), e 8 semanas foi maior que o basal ($p=0,00009$) e maior que 4 semanas ($p=0,0009$).

Tabela 2- Resultado do Teste para9 Determinação da Velocidade Máxima

	Vel. Máx (m/min)	Tempo Total (seg.)
Basal	43±3	1483±122
4 semanas	48±5*	1653±173*
8 semanas	57±5* [#]	1966±217* [#]

ANOVA para medidas repetidas, com *post hoc* de Duncan Test. Dados apresentados em média ± desvio-padrão, com resultados significativos para $p \leq 0,05$. N=9. □ - Diferente da condição Basal; [#] - Diferente da condição de 4 semanas. *Legenda:* (m/min)- metros por minuto; (seg.)- segundos.

3.3 Treinamento de Força

Para verificar a eficácia do protocolo de treinamento resistido, a carga máxima foi avaliada semanalmente. Dessa forma, na Figura 2 é possível observar o comportamento dessa variável no grupo submetido ao treinamento em questão (GTR) e no grupo controle (CNTL). Houve um aumento significativo da carga máxima no grupo GTR a partir da segunda semana ($p < 0,00003$) até a sexta semana de treinamento ($p = 0,03$) quando comparada com a carga máxima da semana anterior, no mesmo grupo. A partir da terceira semana ($p = 0,002$) até a oitava semana de treinamento ($p = 0,00002$) houve um aumento significativo da carga máxima do grupo GTR em comparação ao CNTL, no mesmo momento.

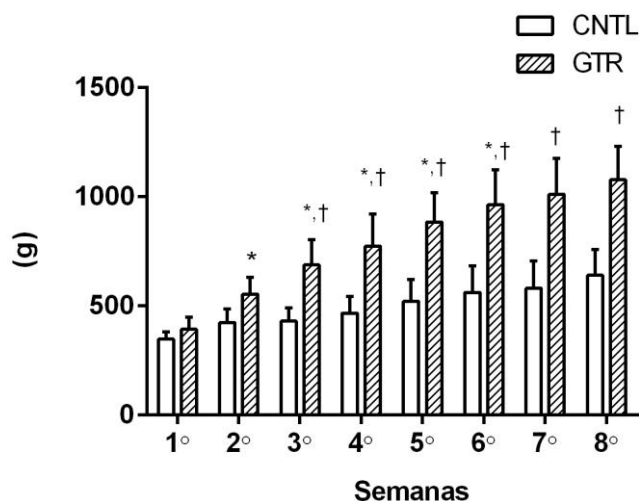


Figura 4 – Carga Máxima. ANOVA para medidas repetidas com *post hoc* utilizando Duncan Test. Dados apresentados em média ± desvio-padrão, com resultados significativos para $p \leq 0,05$. N=10. * - Diferente da carga máxima anterior, no mesmo grupo; † - Diferente da carga máxima do grupo CNTL, no mesmo momento. *Legenda:* CNTL- Grupo Controle; GTR- Grupo Treinamento Resistido.

Corroborando aos dados da carga máxima, a área de secção transversa (AST) do músculo Plantar também foi avaliada ($F_{(2,12)}=50,022$, $p=0,0001$), apresentando um aumento no grupo GTR quando comparado aos grupos CNTL ($p=0,02$) e GTA ($p=0,00009$). Também foi observado diferenças entre o grupo CNTL e GTA ($p=0,0001$), conforme ilustrado na Figura 3.

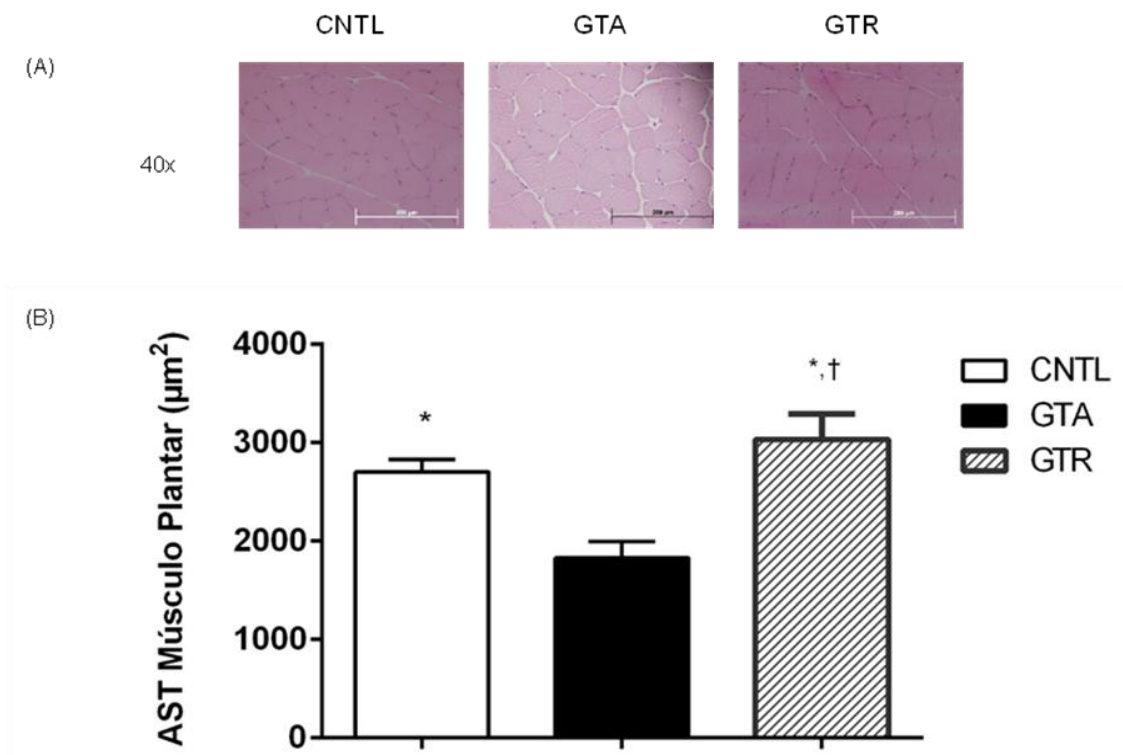


Figura 5 – AST do Músculo Plantar. ANOVA One-way com *post hoc* utilizando Duncan Test. Dados apresentados em média \pm desvio-padrão, com resultados significativos para $p \leq 0,05$. † - Diferente do grupo CNTL; * - Diferente do grupo GTA. *Legenda:* (A)- Fotos Histológicas do Músculo Plantar; (B)- Gráfico do Resultado; CNTL- Grupo Controle; GTA- Grupo Treinamento Aeróbio; GTR- Grupo Treinamento Resistido.

3.4 Peso dos Tecidos

Na tabela 3, podemos observar o efeito dos protocolos de treinamento no peso dos tecidos após o período de oito semanas. Houve diferença da gordura retroperitoneal (RTP) no grupo GTR quando comparada com o grupo CNTL, tanto na avaliação do peso bruto ($F_{(2,24)}=2,9876$, $p=,06941$) quanto na avaliação após o ajuste pelo comprimento da tibia ($F_{(2,24)}=3,1344$, $p=,06174$).

Tabela 3 - Peso dos Tecidos

	CNTL	GTA	GTR
Peso Bruto dos Tecidos			
Adrenal (g)	0,11±0,24	0,08±0,01	0,06±0,00
Fígado (g)	12,85±1,58	12,88±0,80	12,47±1,37
Baço (g)	0,70±0,09	0,67±0,10	0,65±0,06
Gordura EPI Total (g)	4,23±2,18	3,62±1,01	3,56±2,25
Gordura RTP Total (g)	4,54±1,41	3,85±1,16	3,12±1,10*
Peso Ajustado pelo Comprimento da Tíbia			
Adrenal (mg/mm)	2,65±4,07	1,92±2,07	1,44±0,14
Fígado (mg/mm)	310,02±32,52	311,73±19,14	299,10±29,65
Baço (mg/mm)	16,98±1,85	16,17±2,30	15,65±1,27
Gordura EPI Total (mg/mm)	102,56±53,90	87,36±23,11	84,28±50,70
Gordura RTP Total (mg/mm)	109,51±34,16	93,15±28,20	74,40±26,39*

ANOVA *one-way* com *post hoc* utilizando Duncan Test. Dados apresentados em média ± desvio-padrão, com resultados significativos para $p \leq 0,05$. N=9. * - Diferente do grupo CNTL. *Legenda*: EPI – Gordura Epididimal; RTP – Gordura Retroperitoneal; (g) – gramas; (mg/mm) – microgramas por milímetro; Ajuste pelo comprimento da Tíbia – Peso da estrutura/comprimento da Tíbia*1000.

3.5 Análises Bioquímicas

Na tabela 4 podemos observar o perfil das análises bioquímicas realizadas após o período de treinamento de oito semanas. Não foram encontradas diferenças significativas nas análises de Corticosterona ($F_{(2,24)}=0,06620$, $p=,93612$), Insulina ($F_{(2,23)}=1,6970$, $p=,20538$), Proteína C Reativa ($F_{(2,18)}=,63789$, $p=,53994$) e nas concentrações de BDNF no músculo ($F_{(2,24)}=,83853$, $p=,44462$), quando estas foram comparadas entre os grupos.

No entanto, quando avaliado a Testosterona ($F_{(2,22)}=11,382$, $p=,00040$) e as concentrações de BDNF no Hipocampo ($F_{(2, 21)}=3,7264$, $p=,04121$) e no Sangue ($F_{(2, 24)}=37,470$, $p=,00000$), foram observadas diferenças significativas.

A Testosterona apresentou um aumento significativo no grupo GTA quando comparada aos grupos CNTL ($p=0,0001$) e GTR ($p=0,009$) enquanto a análise da concentração de BDNF no Hipocampo foi menor no grupo GTR, apresentando diferença significativa apenas quando comparado ao grupo GTA ($p=0,01$). No entanto, a análise da

concentração de BDNF no Sangue apresentou um aumento significativo nos grupos GTR ($p=0,00006$) e GTA ($p=0,0001$) quando comparado ao grupo CNTL.

Tabela 4 – Análises Bioquímicas

	CNTL	GTA	GTR
Corticosterona (ng/dL)	40,66±12,79	35,56±9,9	40,96±12,49
PCR (mg/dL)	0,28±0,03	0,32±0	0,31±0,03
Testosterona (ng/dL)	287,61±37,80	1758,26±561,72*	554,81±84,14
Insulina (ng/mL)	1,62±0,34	1,20±0,15	1,79±0,17
BDNF HC (pg/mL)	8443,16±315,7	9718,42±777,58	4709,60±2071,39 [¶]
BDNF PL (pg/mL)	380,52±20,56	350,89±28,32	318,61±46,95
BDNF SG (pg/mL)	198,86±19,12	566,19±48,58 [†]	606,24±36,21 [†]

ANOVA *one-way* com *post hoc* utilizando Duncan Test. Dados apresentados em média ± desvio-padrão, com resultados significativos para $p \leq 0,05$. N-10. □ - Diferente de todos os grupos; [†] - Diferente do grupo CNTL; [¶] - Diferente do grupo GTA. *Legenda:* BDNF- *Brain-Derived Neurotrophic Factor*; BDNF HC- Medida de BDNF no Hipocampo; BDNF PL- Medida de BDNF no músculo Plantar; BDNF SG- Medida de BDNF no Sangue. IGF-1- *Insulin Growth Factor 1*; PCR- Proteína C Reativa; (ng/dL)- Nanogramas por Decilitros; (mg/dL)- Miligramas por Decilitros; (pg/dL)- Picogramas por Decilitros; (ng/mL)- Nanogramas por Mililitros; (pg/mL)- Picogramas por Mililitros.

4. DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do treinamento físico aeróbio e do treinamento físico resistido nas concentrações centrais e periféricas de BDNF em ratos, sendo possível observar que no sistema nervoso central a concentração de BDNF nos ratos submetidos ao treinamento físico resistido foi menor quando comparado aos demais grupos. No entanto, na corrente sanguínea os dois tipos de treinamento foram capazes de aumentar a concentração de BDNF quando comparado ao grupo controle, demonstrando que os dois tipos de treinamento foram capazes de aumentar a concentração dessa neurotrofina periféricamente. Esses dados corroboram com os estudos de (DING *et al.*, 2006; SCHULZ *et al.*, 2004), onde eles também encontraram resultados semelhantes no que diz respeito ao treinamento aeróbio, no entanto, Schiffer *et al.*, (2009) não observaram o mesmo aumento encontrado no nosso estudo quando aplicaram seus protocolos.

Foi possível observar que o treinamento aeróbio foi capaz de melhorar a capacidade aeróbia, podendo ser observado pela melhora na velocidade máxima alcançada e pelo tempo total gasto nos testes até a exaustão. Corroborando com os nossos resultados, Brito Vieira *et al.*, (2014) também encontraram o mesmo comportamento, porém utilizando um protocolo de treinamento com duração de cinco semanas de treinamento aeróbio, comprovando a eficácia do protocolo de treinamento em melhorar a capacidade aeróbia dos animais.

Os dois protocolos de treinamento foram capazes de melhorar a composição corporal dos animais, podendo ser observado pela diminuição da gordura retroperitoneal nos dois grupos, no entanto, apenas o treinamento resistido apresentou diferenças significativas quando comparado com o grupo controle. Isso pode ser devido à intensidade do protocolo do treinamento resistido, que tinha como característica sobrecarga/estímulos de alta intensidade, o que aumenta a taxa de oxidação de gordura durante o a fase de recuperação (YOSHIOKA *et al.*, 2001). O mesmo resultado de gordura corporal foi encontrado no estudo de Ribeiro *et al.* (2011), dando suporte aos nossos achados.

A melhora da força durante as oito semanas de protocolo de treinamento resistido pode ser observada nos testes para determinar a carga máxima, onde no decorrer das semanas a carga máxima alcançada aumentava, refletindo o aumento na força dos

animais. Esse aumento na força dos animais pode ser justificado pelo aumento da área de secção transversa do músculo plantar quando comparado aos demais grupos. Músculo esse que é o agonista do movimento de escalada do aparato de treino, motivo pelo qual as fibras musculares aumentaram seu tamanho e consequente força do animal durante os testes. Juntas essas variáveis refletem a adaptação causada pelo treinamento durante as oito semanas, adaptações essas específicas de cada treino, porém importantes para a manutenção e promoção da saúde.

Nessa perspectiva, os animais foram capazes de assimilar os dois protocolos de treinamento, podendo ser observado pelas concentrações do hormônio Corticosterona, considerado o hormônio do estresse, que não apresentou diferença entre os grupos. Junto a isso, Liu *et al.* (2014), demonstrou que após um protocolo para induzir o estresse, a concentração de corticosterona no soro estava aumentado, dando suporte aos nossos dados onde o protocolo de treinamento não foi capaz de estressar os animais.

Contudo, outra adaptação importante causada pelos dois tipos de treinamento foi o aumento na concentração de Testosterona, indo de acordo com estudos que utilizaram o mesmo tipo de treinamento (BARONE, R. *et al.*, 2013; GONÇALVES, L. *et al.*, 2014). Porém, após as análises estatísticas apenas foi possível identificar diferença significativa no grupo submetido ao treinamento aeróbio quando comparado ao grupo controle. Esse aumento reflete a capacidade do organismo em adaptar-se a característica e a demanda energética do exercício de corrida, que no estudo de Araujo *et al.*, (2014) demonstra a eficácia desse tipo de exercício em aumentar os níveis de testosterona.

Além disso, o aumento do BDNF na periferia pode ser devido a sua capacidade de responder a desafios energéticos como o exercício físico, estimulando sua síntese em diversos tecidos incluindo o músculo (MATTHEWS *et al.*, 2009; MOUSAVI e JASMIN 2006; GARCIA *et al.*, 2010), células endoteliais vasculares (KERSCHENSTEINER *et al.*, 1999) e células do sistema imune (KNAEPEN *et al.*, 2010; NAKAHASHI *et al.*, 2000) culminando em seu efeito protetor. Conforme demonstrado por Yamanaka *et al.*, (2008), o BDNF circulante participa no controle da glicemia aumentando a sensibilidade à insulina, a oxidação de glicose (NAKAGAWA *et al.*, 2002) e reduzindo os níveis de glicose no sangue (SUWA *et al.*, 2010), o que justificaria seu aumento.

Nesse sentido, podemos observar que a diminuição da concentração de BDNF no hipocampo após o protocolo de treinamento resistido foi apenas observada quando comparada ao grupo submetido ao treinamento aeróbio, não sendo diferente do grupo controle. Esses dados corroboram com o estudo de (CASILHAS *et al.*, 2012) onde também não houve diferença nos níveis centrais de BDNF após o período de treinamento resistido quando comparado ao grupo controle. Essa diferença, segundo Casilhas *et al.*, (2012) pode ser devido as diferentes vias de sinalização estimuladas por cada tipo de exercício, sugerindo que os exercícios de força atuam mais nas vias de sinalização de IGF-1.

Diante do exposto, é possível observar que tanto o protocolo de treinamento aeróbio quanto o resistido foram capazes de aumentar o BDNF no sangue, melhorar a composição corporal, a capacidade aeróbia e a força muscular fortalecendo as evidências no que se diz a respeito do efeito protetor do treinamento físico para o organismo.

5. CONCLUSÃO

De acordo com resultados encontrados, os dois tipos de treinamento foram capazes de produzir adaptações relacionadas à melhora funcional, morfológica e fisiológica do organismo no animal. Juntas, essas adaptações dão suporte ao efeito benéfico do treinamento físico para a manutenção/promoção da saúde. O treinamento aeróbio foi capaz de aumentar a concentração de Testosterona e BDNF no sangue, e no hipocampo quando comparado ao grupo submetido ao treinamento resistido, Enquanto que o treinamento resistido aumento apenas o BDNF no sangue. A melhora observada na capacidade aeróbia, na força muscular e nas análises bioquímicas demonstram que essas adaptações são importantes para o bom funcionamento do corpo e que os protocolos adotados são importantes estratégias não farmacológicas para o tratamento de diversas doenças, tanto crônico-degenerativas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLARD, P.A. *et al.* The timecourse of induction of brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein in the rat hippocampus following voluntary exercise. **Neuroscience Letters**. v. 363, n. 1, p. 43-48, 2004.

DE ARAUJO, G.G. *et al.* Interval versus continuous training with identical workload: physiological and aerobic capacity adaptations. **Physiological Research**. 2014.

AYDEMIR, O. *et al.* Serum brain-derived neurotrophic factor level in dysthymia: a comparative study with major depressive disorder. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry**. v. 31, n. 5, p. 1023-1026, 2007.

BARAUNA, V.G. *et al.* AT1 receptor participates in the cardiac hypertrophy induced by resistance training in rats. **American Journal of Physiology –Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v. 295, n. 2, p. 381-387, 2008.

BARNABÉ-HEIDER, F; MILLER, F.D. Endogenously produced neurotrophins regulate survival and differentiation of cortical progenitors via distinct signaling pathways. **The Journal of Neuroscience**. v. 23, n. 12, p. 5149-5160, 2003.

BARONE, R. *et al.* Endurance exercise and conjugated linoleic acid (CLA) supplementation up-regulate CYP17A1 and stimulate testosterone biosynthesis. **Plos One**. v. 8, n. 11, p. 2013.

BINDER, D.K; SCHARFMAN, H.E. Brain-Derived Neurotrophic Factor. **Growth Factors**. v. 22, n. 3, p. 123-131, 2004.

BRITO VIEIRA, W.H. *et al.* Aumento do limiar de lactato após cinco semanas de treinamento aeróbio em esteira em ratos. **Brazilian Journal of Biology**. v. 74, n. 2, p. 444-449, 2014.

BROOKS, G.A; WHITE, T.P. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. **Journal of Applied Physiology**. v. 45, n. 6, p. 1009-1015, 1978.

BUS, B.A.A. *et al.* Determinants of serum brain-derived neurotrophic factor. **Psychoneuroendocrinology**. v. 36, n. 2, p. 228-39, 2011.

CARDOSO JÚNIOR, C.G. *et al.* Acute and chronic effects of aerobic and resistance exercise on ambulatory blood pressure. **Clinics**. v. 65, n. 3, p. 317-25, 2010.

CASSILHAS, R.C. *et al.* SPATIAL MEMORY IS IMPROVED BY AEROBIC AND RESISTANCE EXERCISE THROUGH DIVERGENT MOLECULAR MECHANISMS. **Neuroscience**. v. 202, n. 1, p. 309-317, 2012.

CESARETTI, M.L.R. *et al.* Hemodinâmica sistêmica e função ventricular esquerda de ratos hipertensos tornados diabéticos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. v. 54, n. 9, p. 842-851, 2010.

CHAO, M.V; BOTHWELL, M. Neurotrophins: to cleave or not to cleave. **Neuron**. v. 33, n. 1, p. 9-12, 2002.

CHAPMAN, S.B. *et al.* Shorter term aerobic exercise improves brain, cognition, and cardiovascular fitness in aging. **Frontiers in Aging Neuroscience**. v. 5, n. 75, doi: 10.3389, 2013.

CHARETTE, S.L. *et al.* Muscle hypertrophy response to resistance training in older women. **Journal of Applied Physiology**. v. 70, n. 5, p. 1912-16, 1991.

CLOW, C; JASMIN, B.J. Brain-derived Neurotrophic Factor regulates satellite cell differentiation and skeletal muscle regeneration. **Molecular Biology of the Cell**. v. 21, n. 13, p. 2182-2190, 2010.

COLOMBO, E. *et al.* Autocrine and immune cell-derived BDNF in human skeletal muscle: implications for myogenesis and tissue regeneration. **The Journal of Pathology**. v. 231, n. 2, p. 190-198, 2013.

CURRIE, J. *et al.* Cardio-respiratory fitness, habitual physical activity and serum brain derived neurotrophic factor (BDNF) in men and women. **Neuroscience Letters**. v. 451, n. 2, p. 152-155, 2009.

DING, Q. *et al.* Insulin-like growth factor I interfaces with brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity to modulate aspects of exercise-induced cognitive function. **Neuroscience**. v. 140, n. 3, p. 828-33, 2006.

DUNCAN, N.D; WILLIAMS, D.A; LYNCH G.S. Adaptations in rat skeletal muscle following long-term resistance exercise training. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**. v. 77, n. 4, p. 372-378, 1998.

FAHLMAN, M.M. *et al.* Effects of endurance training and resistance training on plasma lipoprotein profiles in elderly women. **The Journals of Gerontology**. v. 57A, n. 2, p. B54-B60, 2002.

FERRIS, L.T; WILLIAMS, J.S; SHEN, C-L. The effect of acute exercise on serum Brain-Derived Neurotrophic Factor levels and cognitive function. **Medicine & Science in Sports & Exercise**. v. 39, n. 4, p. 728-734, 2007.

FUJIMURA, H. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation. **Thrombosis and Haemostasis**. v. 87, n. 4, p. 728-734, 2002.

FUJINAMI, A. *et al.* Serum brain-derived neurotrophic factor in patients with type 2 diabetes mellitus: Relationship to glucose metabolism and biomarkers of insulin resistance. **Clinical Biochemistry**. v. 41, n. 10-11, p. 812-817, 2008.

GARCIA, N *et al.* Localization of brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-4, tropomyosin-related kinase b receptor, and p75NTR receptor by high-resolution immunohistochemistry on the adult mouse neuromuscular junction. **Journal of the Peripheral Nervous System**. v. 15, n. 1, p. 40-49, 2010.

GAVA, N.S. *et al.* Low-intensity exercise training attenuates cardiac beta-adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**. v. 26, n. 6, p. 1129-1133, 1995.

GOEKINT *et al.* Strength training does not influence serum brain-derived neurotrophic factor. **European Journal of Applied Physiology**. v. 110, n. 2, p. 285-293, 2010.

GOLD, S.M. *et al.* Basal serum levels and reactivity of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor to standardized acute exercise in multiple sclerosis and controls. **Journal of Neuroimmunology**. v. 138, n. 1-2, p. 99-105, 2003.

GOMEZ-PINILLA, F. *et al.* Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. **Journal of Neurophysiology**. v. 88, n. 5, p. 2187-95, 2002.

GONÇALVES, L. *et al.* Resistance exercise and testosterone treatment alters the proportion of numerical density of capillaries of the left ventricle of aging Wistar rats. **Aging Male**. v. 5, n. 1, p. 1-5, 2014.

GONUL, A.S. *et al.* Effect of treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**. v. 255, n. 6, p. 381-386, 2005.

GREENBERG, M.E *et al.* New Insights in the Biology of BDNF Synthesis and Released: Implications in CNS Function. **The Journal of Neuroscience**. v. 29, n. 41, p. 12764-12767, 2009.

HALSON, S.L. *et al.* Immunological responses to overreaching in cyclists. **Medicine & Science in Sports & Exercise**. v. 35, n. 5, p. 854-861, 2003.

HANDSCHIN, C; SPIEGELMAN, B.M. The role of exercise and PGC1 α in inflammation and chronic disease. **Nature**. v. 454, n. 7203, p. 463-469, 2008.

KERMANI, P; HEMPSTEAD, B. Brain-Derived Neurotrophic Factor: A newly described mediator of angiogenesis. **Trends in Cardiovascular Medicine**. v. 17, n. 4, p. 140-143, 2007.

KERSCHENSTEINER, M. *et al.* Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a

neuroprotective role of inflammation?. **The Journal of Experimental Medicine**. v. 189, n. 5, p. 865-870, 1999.

KIM, Y.K. *et al.* Low plasma BDNF is associated with suicidal behavior in major depression. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry**. v. 31, n. 1, p. 78-85, 2007.

KNAEPEN, K. *et al.* Neuroplasticity – Exercise-Induced Response of Peripheral Brain-Derived Neurotrophic Factor. **Sports Medicine**. v. 40, n. 9, p. 765-801, 2010.

KOIKE, M,K; FRIMM, Cde C E CÚRI, M. Low coronary driving pressure early in the course of myocardial infarction is associated with subendocardial remodelling and left ventricular dysfunction. **International Journal of Experimental Pathology**. v. 88, n. 4, p. 279-290, 2007.

KRABBE, K.S. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. **Diabetologia**. v. 50, n. 2, p. 431-38, 2007.

LAMMERS, C. *et al.* Spironolactone prevents aldosterone induced increased duration of atrial fibrillation in rat. **Cellular Physiology and Biochemistry**. v. 29, n. 5-6, p. 833-840, 2012.

LASKE, C. *et al.* Stage-dependent BDNF serum concentrations in Alzheimer's disease. **Journal of Neural Transmission**. v. 113, n. 9, p. 1217-1224, 2006.

LEE, E.O.; LEE, K.H.; KOZYREVA, O. The effect of complex exercise rehabilitation program on body composition, blood pressure, blood sugar, and vessel elasticity in elderly women with obesity. **Journal of Exercise Rehabilitation**. v. 9, n. 6, p. 514-519, 2013.

LIU, D. *et al.* Resveratrol reverses the effects of chronic unpredictable mild stress on behavior, serum corticosterona levels and BDNF expression in rats. **Behavioural Brain Research**. v. 264, n. 1, p. 9-16, 2014

LLORENS-MARTÍN, M; TORRES-ALEMÁN, I; TREJO, J.L. Growth factors as mediators of exercise actions on the brain. **Neuromolecular Medicine**. v. 10, n. 2, p. 99-107, 2008.

LOMMATZSCH, M. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor in platelets and airflow limitation in asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**. v. 171, n. 2, p. 115-120, 2005.

MAGALHÃES, F.C. *et al.* Hipertrofia cardíaca induzida pelo treinamento físico: eventos moleculares e celulares que modificam o fenótipo. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**. v. 7, n. 1, p. 189-193, 2008.

MATTHEWS, V.B. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor is produced by skeletal muscle cells in response to contraction and enhances fat oxidation via activation of AMP-activated protein kinase. **Diabetologia**. v. 52, n. 7, p. 1409-1418, 2009.

McARDLE, W.D; KATCH, F.L; KATCH, V.L. **Fisiologia do Exercício – Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. Traduzido por Giuseppe Taranto. 5. Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 2003.

McCARTNEY, N. *et al.* Long-term resistance training in the elderly: effects on dynamic strength, exercise capacity, muscle, and bone. **The Journals of Gerontology**. v. 50, n. 2, p. B97-104, 1995.

MILLER, C.T. *et al.* The effects of exercise training in addition to energy restriction on functional capacities and body composition in obese adults during weight loss: a systematic review. **Plos One**. v. 8, n. 11, doi: 10.1371, 2013.

MIURA, P. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor expression is repressed during myogenic differentiation by miR-206. **Journal of Neurochemistry**. v. 120, n. 2, p. 230-238, 2012.

MONTELEONE, P. *et al.* Opposite changes in the serum Brain-Derived Neurotrophic Factor in anorexia nervosa and obesity. **Psychosomatic Medicine**. v. 66, n. 1, p. 744-748, 2004.

MORISAWA, Y.*et al.* QUANTITATION OF NEUROTROPHIN mRNA IN SKELETAL MUSCLE:CHANGES DURING THE PROCESS OF PERIPHERAL NERVE REGENERATION. **Journal of Musculoskeletal Research**. v. 10, n. 3, pg. 131-140, 2006.

MOUSAVI, K; JASMIN, B.J. BDNF is expressed in skeletal muscle satellite cells and inhibits myogenic differentiation. **The Journal of Neuroscience**. v. 26, n. 21, p. 5739-49, 2006.

NAKAGAWA, T. *et al.* Brain-Derived Neurotrophic Factor regulates glucose metabolism by modulating energy balance in diabetic mice. **Diabetes**. v. 49, n. 3, p. 436-444, 2002.

NAKAHASHI, T. *et al.* Vascular endothelial cells synthesize and secrete brain-derived neurotrophic factor. **FEBS Letters**. v. 470, n. 2, p. 113-117, 2000.

OGBORN, D.I; GARDINER, P.F. Effects of exercise and muscle type on BDNF, NT-4/5 and TrkB expression in skeletal muscle. **Muscle & Nerve**. v. 41, n. 3, p. 385-391, 2010.

PEIXINHO-PENA, L.F. *et al.* A strength exercise program in rats with epilepsy is protective against seizures. **Epilepsy Behavior**. v. 25, n. 3, pg. 323-328, 2012.

REICHARDT, L.F. Neurotrophin-regulated signaling pathways. **Philosophical Transactions of The Royal Society Biological Sciences**. v. 361, n. 1473, p. 1545-1564, 2006.

PEREIRA, B.P. *et al.* Intramuscular Nerve Damage in Lacerated Skeletal Muscles may Direct the Inflammatory Cytokine Response During Recovery. **Journal of Cellular Biochemistry**. v. 113, n. 1, pg. 2330-2345, 2012.

RIBEIRO, T.A.S. *et al.* O uso de decanoato de nandrolona, redução de gordura corporal e ganho de força em ratos wistar. **EFDportes.com, Revista Digital**. v. 16, n. 161, p. 2011.

ROJAS VEGA, S. *et al.* Acute BDNF and cortisol response to low intensity exercise and following ramp incremental exercise to exhaustion in humans. **Brain Research**. v. 1121, n. 1, p. 59-65, 2006.

ROJAS VEGA, S. *et al.* Impact of exercise on neuroplasticity-related proteins in spinal cord injured humans. **Neuroscience**. v. 153, n. 4, p. 1064-70, 2008.

SAKUMA, K; YAMAGUCHI, A. The recent understanding of the neurotrophin's role in skeletal muscle adaptation. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. doi: 10.1155, 2011.

SCHIFFER, T. *et al.* Effects of strength and endurance training on brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor 1 in humans. **Hormone and metabolic research**. v. 41, n. 3, p.250-254, 2009.

SCHULZ, K. *et al.* Impact of aerobic training on immune-endocrine parameters, neurotrophic factors, quality of life and coordinative function in multiple sclerosis. **Journal of the neurological science**. v. 225, n. 1-2, p. 11-18, 2004.

SELIG, S.E. *et al.* Moderate-intensity resistance exercise training in patients with chronic heart failure improves strength, endurance, heart rate variability, and forearm blood flow. **Journal of Cardiac Failure**. v. 10, n.1, p. 21-30, 2004.

SHIGUEMOTO, G.E. *et al.* Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. **Scandinavian Journal of Medicine & Science Sports**. v. 22, n. 5, p. 607- 617, 2012.

SNOEK, J.A. *et al.* Effect of aerobic training on heart rate recovery in patients with established heart disease; a systematic review. **Plos One**. v. 8, n. 12, doi: 10.1371, 2013.

STARON, R.S. *et al.* Skeletal muscle adaptations during early phase of heavy-resistance training in men and women. **Journal of Applied Physiology**. v. 76, n. 3, p. 1247-55, 1994.

SUWA, M. *et al.* Brain-Derived Neurotrophic Factor treatment increases the skeletal muscle glucose transporter 4 protein expression in mice. **Physiological Research**. v. 59, n. 4, p. 619-623, 2010.

TONRA, J.R. *et al.* Brain-Derived Neurotrophic Factor improves blood glucose control and alleviates fasting hyperglycemia in C57BLKS-Lepr/lepr mice. **Diabetes**. v. 48, n. 3, p. 588-594, 1999.

TOYOOKA, K. *et al.* Decreased levels of brain-derived neurotrophic factor in serum of chronic schizophrenic patients. **Psychiatry Research**. v. 110, n. 1, p. 249-257, 2002.

VAYNMAN, S; GOMEZ-PINILLA, F. License to run: exercise impacts functional plasticity in the intact and injured central nervous system by using neurotrophins. **Neurorehabilitation and Neural Repair**. v. 19, n. 4, p. 283-95, 2005.

WARBURTON, D.E.R; NICOL, C.W; BREDIN, S.S.D. Health benefits of physical activity: the evidence. **Canadian Medical Association Journal**. v. 174, n. 6, p. 801-9, 2006.

YAMANAKA, M. *et al.* Intermittent administration of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) ameliorates glucose metabolism and prevents pancreatic exhaustion in diabetic mice. **Journal of bioscience and bioengineering**. v. 105, n. 4, p. 395-402, 2008.

YARASHESKI, K.E; LEMON, P.W; GILLOTEAUX, J. Effect of heavy-resistance exercise training on muscle fiber composition in young rats. **Journal of Applied Physiology**. v. 69, n. 2, p. 434-437, 1990.

YARROW, J.F. *et al.* Training augments resistance exercise induced elevation of circulation brain derived neurotrophic factor (BDNF). **Neuroscience Letters**. v. 479, n. 2, p. 161-165, 2010

YOSHIOKA, M. *et al.* Impact of high-intensity on energy expenditure, lipid oxidation and body fatness. **Internation Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**. v. 25, n. 3, p. 332-339, 2001.

ZHAN, W.Z; MANTILLA, C.B; SIECK, G.C. Regulation of neuromuscular transmission by neurotrophins. **Acta Physiologica Sinica**. v. 55, n. 6, p. 617-624, 2003.

ZOLADZ, J.A; PILC, A. The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. **Journal of Physiology and Pharmacology**. v. 61, n. 5, p. 533-41, 2010.

APÊNDICE 1

Para melhor compreensão dos resultados apresentados em gráficos, será apresentado nesta sessão, em forma de tabelas, os valores numéricos das variáveis analisadas.

Tabela 5 - Evolução do Teste de Carga Máxima Durante 8 Semanas

	CNTL	GTR
1ª Semana	346±34	358±25
2ª Semana	423±63	551±78*
3ª Semana	429±61	687±114* [†]
4ª Semana	465±76	773±147* [†]
5ª Semana	519±101	883±135* [†]
6ª Semana	561±120	963±158* [†]
7ª Semana	579±125	1009±166 [†]
8ª Semana	639±117	1076±154 [†]

ANOVA para medidas repetidas com *post hoc* utilizando Duncan Test. Dados apresentados em média ± desvio-padrão, com resultados significativos para $p \leq 0,05$. N=10. * - Diferente da carga máxima anterior, no mesmo grupo; [†] - Diferente da carga máxima do grupo CNTL, no mesmo momento.

Tabela 6 - Delta da Variação do Peso Corporal.

	CNTL	GTA	GTR
Delta Peso Corporal	61±21	57±18	30±13*

ANOVA *one-way* com *post hoc* utilizando Duncan Test. Dados apresentados em média ± desvio-padrão, com resultados significativos para $p \leq 0,05$. N=9. * - Diferente de todos os grupos. *Legenda:* CNTL- Grupo Controle; GTA- Grupo Treinamento Aeróbio; GTR- Grupo Treinamento Resistido.

Tabela 7 - AST do Músculo Plantar.

	CNTL	GTA	GTR
AST Músculo Plantar	2697±131*	1824±172	3029±263* [†]

ANOVA *One-way* com *post hoc* utilizando Duncan Test. Dados apresentados em média ± desvio-padrão, com resultados significativos para $p \leq 0,05$. [†] - Diferente do grupo CNTL; * - Diferente do grupo GTA. *Legenda:* CNTL- Grupo Controle; GTA- Grupo Treinamento Aeróbio; GTR- Grupo Treinamento Resistido.

ANEXO 1



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 30 de Julho de 2010.
CEP 0764/10

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) MARCO TÚLIO DE MELLO
Co-Investigadores: Hanna Karen Moreira Antunes, Murilo Dáttilo, Alessandra Medeiros, Marco Tulio de Mello (orientador)
Disciplina/Departamento: Medicina e Biologia do Sono da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo
Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **"Efeitos da privação de sono nas vias tróficas e atróficas da musculatura esquelética de ratos"**.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Experimental, categoria C - estudo crônico.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Não se aplica.

OBJETIVOS: Verificar os efeitos da privação de sono no balanço das vias de síntese e degradação proteica musculares, nas condições de privação de sono, assim como o impacto da privação de sono no processo de recuperação muscular, após o dano induzido pela criolesão ou toxina de cobra..

RESUMO: Estudo com 1260 ratos Wistar, machos, 12 semanas. Anestésico: ketamina e xilazina. Analgésico: buprenorfina ou butorfanol. Eutanásia: decapitação. Serão realizados 3 sub-projetos: protocolo experimental 1- controle, privação de sono de 48h e 96h, as respectivas condições de rebote de sono de 24h e restrições de 7, 14 e 21 dias, com período de rebote de sono de 7 dias, nas condições sem dano muscular e com dano muscular induzido por criolesão e por toxina de cobra. Protocolo experimental 2 - controle, privação de sono de 48h e 96h, as respectivas condições rebote de sono de 24h e restrições de 7, 14 e 21 dias, com período de rebote de sono de 7 dias, sob administração de L-leucina, nas condições sem dano muscular e com dano muscular induzido por criolesão e por toxina de cobra. Protocolo experimental 3- controle, privação de sono de 48h e 96h, as respectivas condições rebote de sono de 24h e restrições de 7, 14 e 21 dias, com período de rebote de sono de 7 dias, sob administração de morfina, nas condições sem dano muscular e com dano muscular induzido por criolesão e por toxina de cobra. Para cada protocolo experimental, serão utilizados 10 animais por grupo. Os animais serão sacrificados, o sangue coletado para análise de IGF-1, corticosterona, testosterona e TNF-alfa. Serão retirados os músculos das patas traseiras: sóleo, tibial anterior e plantar para análise das proteínas que compõem as vias tróficas e atróficas da musculatura esquelética e para análise histológica. Serão retirados também amostras de tecido hepático e cardíaco. A privação seletiva de sono paradoxal será realizada pelo método da plataforma múltipla. O aminoácido L-leucina será administrado por gavagem 3 dias antes do procedimento de privação do sono e será



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

mantido pelo tempo que esse procedimento durar. A aplicação da modafinila será realizada ip sempre no período da manhã ao longo de todas as condições de privação e restrição de sono. O procedimento de criolesão será realizado sob anestesia, utilizando-se um bastão metálico resfriado em nitrogênio líquido, diretamente no ventre da musculatura da pata esquerda. Para o protocolo de indução de dano muscular por toxina de cobra, será injetado notexina isolada do veneno de cobra diretamente no ventre do músculo. Para análise histológica do músculo serão realizadas colorações com HE, ATPase e SDH, avaliando-se o remodelamento tecidual, tipo de infiltrado inflamatório, edema necrose, fibras com núcleos centralizados e fibras com nucléolos proeminentes. Serão realizados ensaios de imuno-histoquímica e western blot..

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Estudos tem mostrado que o sono é fundamental para o funcionamento celular, orgânico e sistêmico, sendo sua falta potencialmente prejudicial, alterando comportamento alimentar, regulação glicêmica, pressão arterial, processos cognitivos e eixos hormonais. Este estudo visa verificar os efeitos da privação de sono no balanço das vias de síntese e degradação proteica musculares, nas condições de privação de sono, assim como o impacto da privação de sono no processo de recuperação muscular, após o dano induzido pela criolesão ou toxina de cobra..

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos, utilizando metodologia de domínio do laboratório, com infra-estrutura adequada..

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Sem financiamento externo - R\$ 47655,00.

CRONOGRAMA: 72 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: Doutorado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 25/7/2011 e 24/7/2012.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

0764/10